

سنتر تک مرحله‌ای مشتقات اتیل و متیل متصل به یلیدن-استات در موقعیت ۵ از حلقه ۳ و ۱-تiazول و بررسی خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها

یاسین سرواهرابی^{۱*}، صدف شیرین بیگ^۲

^۱ دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۰

چکیده

مقدمه: بروز مقاومت دارویی در باکتری‌ها تهدید جدی برای سلامت جوامع انسانی می‌باشد؛ از این رو مشتقات جدید تiazولی می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای رایج باشند. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف سنتر تک مرحله‌ای مشتقات اتیل و متیل متصل به یلیدن-استات در موقعیت ۵ از حلقه ۳ و ۱-تiazول و بررسی خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها: از واکنش تک مرحله‌ای میان تیواوره و مشتقات استیل‌دی‌کربوکسیلات در حلال استن و ساختارهای جدید تiazول بر پایه اتیل و متیل مشتق گردید و با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی (Infrared) IR، (Carbon Nuclear Magnetic) C-NMR و (Resonance) H-NMR و (Hydrogen Proton Nuclear Magnetic Resonance) H-NMR مورد بررسی و تأیید قرار گرفتند. فعالیت ضد میکروبی ترکیبات سنتر شده به روش انتشار از چاهک، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimal Inhibitory Concentration) در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با سه بار تکرار روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *باسیلوس سرئوس* مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاکی از آن بودند که بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب $R_1 = 30 \pm 0/45$ و $R_2 = 34 \pm 1/55$ میلی‌متر بوده و قوی‌ترین اثر مهاري $R_2 = 250$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده است. دو باکتری دیگر مورد مطالعه نیز تحت تأثیر ترکیبات قرار داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌دهنده آن بودند که مشتقات جدید ۳ و ۱-تiazولی که به صورت تک مرحله‌ای سنتر شدند، در کمترین غلظت دارای فعالیت ضد باکتریایی بسیار خوب همانند داروهای رایج علیه نمونه‌های گرم مثبت مورد آزمایش می‌باشند.

کلمات کلیدی: ۳ و ۱-تiazول، فعالیت ضد باکتریایی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سرئوس*

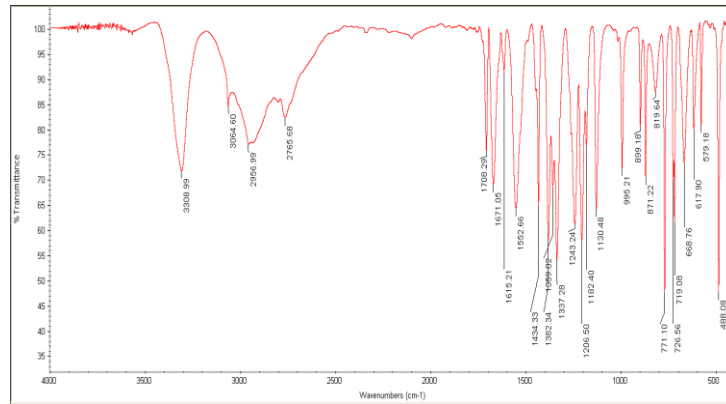
مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها مواد شیمیایی هستند که از ترکیبات طبیعی و ساختگی به دست می‌آیند. کشف و سنتز این ترکیبات، کمک شایانی به درمان بیماری‌های عفونی کرده و طی سال‌های اخیر جان انسان‌های زیادی را نجات داده است (۱). با این وجود، آنچه به شدت دانشمندان را نگران کرده است، بی‌اثر شدن آنتی‌بیوتیک‌ها و ایجاد مقاومت دارویی در درمان برخی از بیماری‌های عفونی است (۲). از مهم‌ترین عوامل مقاومت دارویی، مصرف خودسرانه یا بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد (۳). با توجه به دلایل مختلفی نظیر استفاده گسترده و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها توسط انسان، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ویروسی، کامل نکردن دوره درمانی آنتی‌بیوتیکی، استفاده از رژیم‌های درمانی تک دارویی به جای چند دارویی و فقدان آزمایشات تشخیصی سریع جهت تعیین عوامل عفونت، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به سرعت گسترش یافته است (۴). در صورت عدم کنترل و گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی یا افزایش گونه‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و افزایش شکست درمانی در زمینه درمان عفونت با میکروبهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک مواجه هستیم که این امر خود منجر به طولانی شدن دوره بیماری و به موازات آن افزایش احتمال انتقال بیماری به سایر افراد جامعه، افزایش طول مدت زمان بستری در بیمارستان، افزایش نیاز به داروهایی گران‌تر و در عین حال با عوارض بیشتر برای درمان و افزایش خطر مرگ و میر بیماران می‌شود. تiazول‌ها و مشتقات آن‌ها ترکیبات بسیار مفیدی در بسیاری از زمینه‌ها از جمله شیمی، داروسازی و کشاورزی می‌باشند. به دلیل گستردگی کاربرد مشتقات تiazول‌ها، این ترکیبات از اهمیت زیادی برخوردار هستند (۵). حلقه تiazولیوم در ساختار ویتامین B1 وجود دارد. نقش حلقه تiazول در ویتامین B1 به عنوان دریافت‌کننده الکترون می‌باشد (۶). وجود تiazول‌ها در

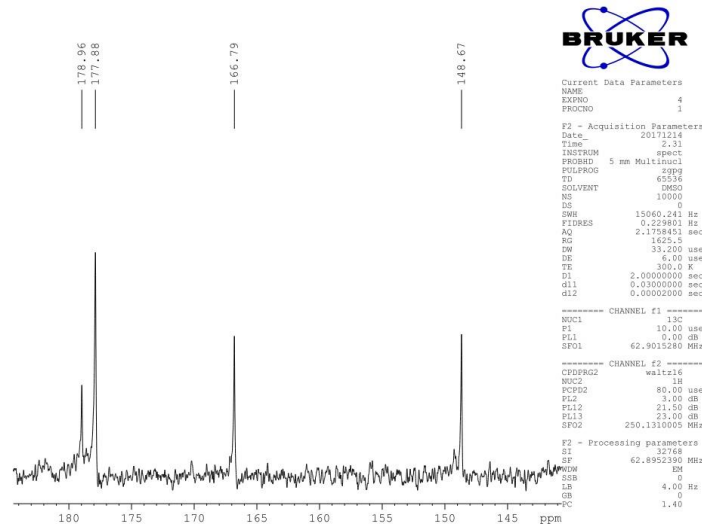
ساختار کوآنزیم‌ها برای کربوکسیل‌زدایی از آلفا کتو اسیدها بسیار مهم است (۷). آمینو تiazول‌ها لیگاند‌های دریافت‌کننده استروژن و آدنوزین هستند (۸). آریل-۲-آمینو تiazول در ساختار محرک‌های دریافت‌کننده β_3 آدرنرژیک وجود دارد. دریافت‌کننده β_3 آدرنرژیک روی سلول‌های چربی در بافت چربی قرار دارند. تحریک این دریافت‌کننده باعث افزایش سرعت متابولیسم چربی‌ها و کاهش وزن می‌شود (۹). ۲-آمینو تiazول در ساختار توپوایزومراز وجود دارد (۱۰). ۴- [۴- (۴-نیترو فنیل)-تiazول آمینو] بنزن سولفونامید به عنوان ضد سیاه زخم کاربرد دارویی دارد (۱۱). ۲- (۵- (۲-تیونیل)-۳-تری فلورو متیل پیرازول-۱-ایل)-۴- فنیل تiazول دارای خاصیت ضد طاعون است (۱۲). فانتیزول از مشتقات ۲-آمینو فنیل تiazول‌ها بوده و به عنوان ضد قارچ عمل می‌کند (۱۳) و از رشد باکتری گرم منفی *xanthomonas* جلوگیری می‌نماید (۱۴). ۱-آریل-۲-آمینو-۳- (۴-آریل تiazول-۲-ایل) گوانیدین دارای خاصیت ضد باکتریایی علیه میکروارگانیزم‌های *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidmidis*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Proteus vulgaris* می‌باشد (۱۵). با توجه به مطالب بیان‌شده، مطالعه حاضر با هدف سنتز تک مرحله‌ای مشتقات Z-۲-۲-آمینو-۴-اوکسو-۳ و ۱-تiazول-۵(H۴)-یلیدن-استات بر پایه گروه‌های اتیل و متیل و بررسی خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC 1337، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* PTCC 1435 و *باسیلوس سرئوس* PTCC 1015 انجام شد.

مواد و روش‌ها

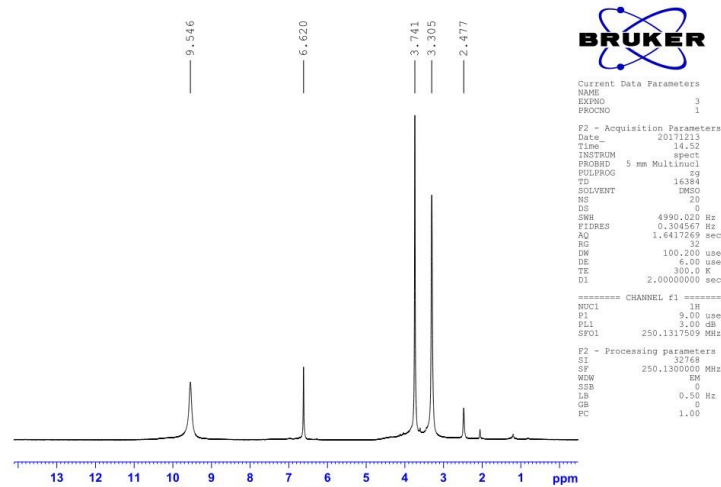
در شکل‌های ۶-۱ طیف‌های IR، C-NMR و H-NMR مشتقات سنتز شده نشان داده شده است.



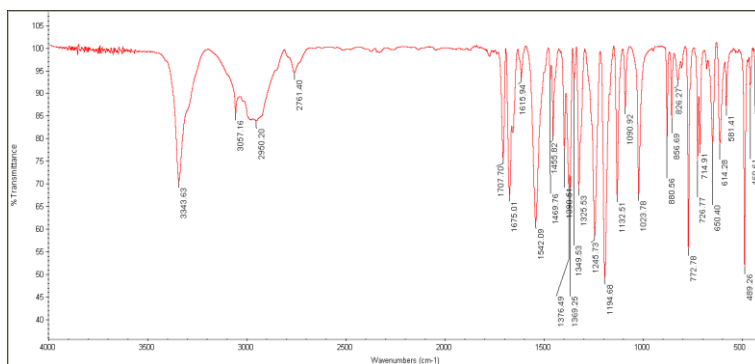
شکل ۱: طیف IR ترکیب متیل-۲-]۲-آمینو-۴-اکسو-۳- و ۱-تiazول-۵-(۴H)-یلیدن] استات



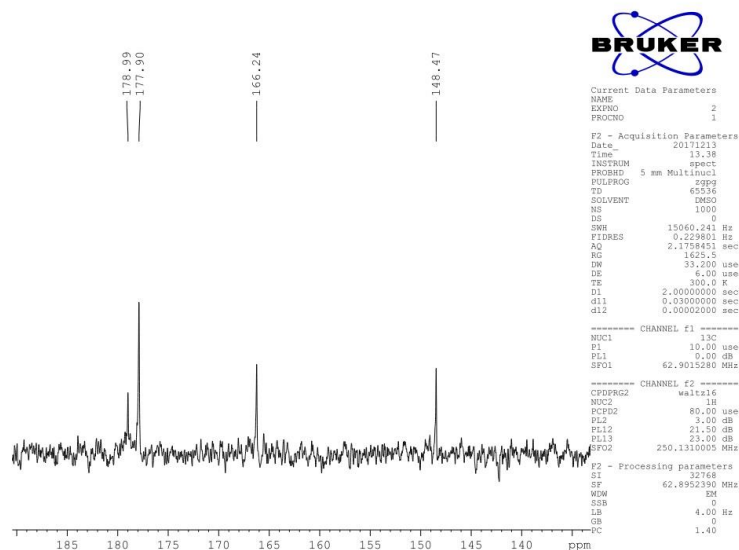
شکل ۲: طیف C.NMR (۷۵/۴۷ مگاهرتز) ترکیب متیل-۲-]۲-آمینو-۴-اکسو-۳- و ۱-تiazول-۵-(۴H)-یلیدن] استات



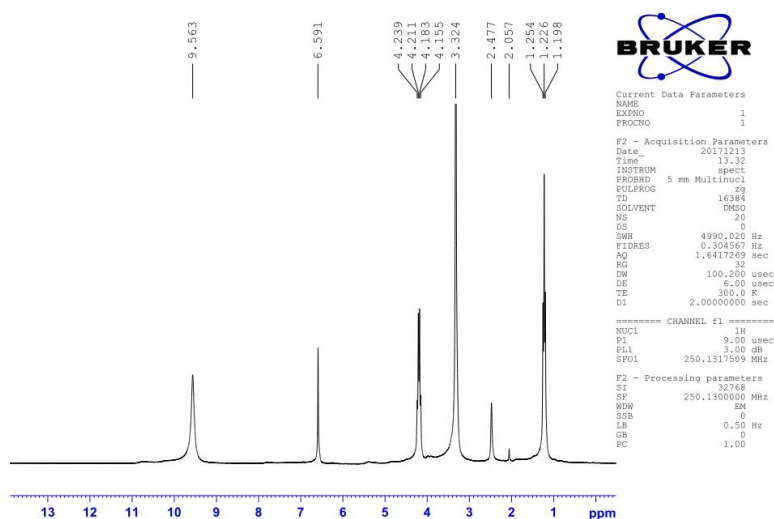
شکل ۳: طیف H.NMR (۳۰۰/۱۳ مگاهرتز) ترکیب متیل-۲-]۲-آمینو-۴-اکسو-۳- و ۱-تiazول-۵-(۴H)-یلیدن] استات



شکل ۴: طیف IR اتیل-۲- [۲-آمینو-۴-اکسو-۳- و ۱-تiazول-۵- (۴H) یلیدن] استات



شکل ۵: طیف C.NMR (۷۵/۴۷ مگاهرتز) اتیل-۲- [۲-آمینو-۴-اکسو-۳- و ۱-تiazول-۵- (۴H) یلیدن] استات



شکل ۶: طیف H.NMR (۳۰۰/۱۳ مگاهرتز) اتیل-۲- [۲-آمینو-۴-اکسو-۳- و ۱-تiazول-۵- (۴H) یلیدن] استات

مواد شیمیایی و وسایل مورد استفاده

در این مطالعه از وسایل و موادی مانند انکوباتور (High-Tech)، اتوکلاو (F2000, Taiwan)، ترازوی دیجیتال (AND-GF200, 0.001 Japan)، محیط کشت مولر هینتون آگار و مولر هینتون براث و نوترینت براث (Merck) استفاده شد. آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و سفتری‌زوکسیم (ساخت شرکت سیگما) با درجه خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت مربوطه تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفت. حلال‌های آلی استفاده‌شده در این پژوهش از شرکت Merck آلمان تهیه شدند و طیف‌سنجی ترکیبات توسط دستگاه BRUKER انجام شد.

ایران (IROST: Iranian Research Organization for Science and Technology) تهیه شد و در محیط کشت نوترینت براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید.

تهیه مشتقات ۳ و ۱-تiazولی

ترکیبات جدید به صورت تک مرحله‌ای توسط حلال استون در دمای محیط سنتز گشته و با بازده بالا استخراج شدند. این ترکیبات به روش طیف‌سنجی C-NMR، IR و H-NMR مورد بررسی و تأیید قرار گرفتند. روش پیشنهادی برای سنتز به این صورت بود که از واکنش میان تیواوره و استیل‌دی‌کربوکسیلات در حضور استون، ساختار جدیدی از ۳ و ۱-تiazول‌ها به صورت تک‌مرحله‌ای سنتز شد. در مرحله بعد با افزودن گروه‌های عاملی اتیل و متیل، دو ساختار متفاوت از ساختار اصلی سنتز گردید. ویژگی‌های فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیبات سنتز شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه

سویه‌های باکتریایی شامل استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1337، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس PTCC 1435 و باسیلوس سرئوس PTCC 1015 بودند که از مرکز کلکسیون باکتری‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی

جدول ۱: روش سنتز پیشنهادی، اطلاعات طیفی و ساختار ترکیبات سنتز شده تiazولی

روش سنتز پیشنهادی (R)	
<p>اتیل-۲-۲-آمینو-۴-اکسو-۳-۱-تiazول-۵(۴H)یلیدن] استات</p> <p>(R₂=CH₃CH₂)</p> <p>White crystals, m.p. 239.0–240.0^oC (dec.), yield 55.1%.</p> <p>IR (K.Br) (ν_{max}, cm⁻¹): 3347; 3219; 1715; 1675; 1642.</p> <p>¹H.NMR (DMSO-d 6) δH: 1.24 (3H, t, 3 J HH = 7.1 Hz, CH 3); 4.21 (2H, q, 3 J HH = 7.1 Hz, OCH 2); 6.60 (1H, s, CH); 9.4–9.7 (2H, br. s, NH 2).</p> <p>¹³C.NMR (DMSO-d 6) δC: 14.52 (CH 3), 61.82 (OCH 2), 115.55 (CH); 148.53 (CS); 166.30 (C N); 177.99 and 179.09 (2 C O).</p>	<p>متیل-۲-۲-آمینو-۴-اکسو-۳-۱-تiazول-۵(۴H)یلیدن] استات</p> <p>(R₁=CH₃)</p> <p>White crystals, m.p. 232.0–233.0^oC (Dec.), yield 58.3%.</p> <p>IR (K.Br) (ν_{max}, cm⁻¹): 3315; 1710; 1679.</p> <p>¹H. NMR (DMSO-d 6) δH: 3.83 (3H, s, CH 3); 6.62(1H, s, CH); 9.31 (1H, s, NH); 9.5–9.7 (1H, br. s, NH) .</p> <p>¹³C.NMR (DMSO-d 6) δC: 50.82 (CH 3), 113.45 (CH); 147.06 (CS); 164.95 (C N); 176.29 and 177.24 (2 C O).</p>

بررسی اثر ضد میکروبی مشتقات سنتز شده

به منظور انجام آزمون‌های انتشار از چاهک و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، محلولی به غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از مشتقات جدید سنتز شده تiazولی تهیه شد. در تهیه این محلول‌ها از حلال دی‌متیل‌سولفوکساید استفاده شد. برای نیل به این هدف، ۱ میلی‌گرم از مشتقات تiazولی توسط ترازو وزن شد و در ۱ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل‌سولفوکساید حل گردید. نمونه‌های کنترلی (سیپروفلوکساسین و سفتری‌زوکسیم) نیز با همین میزان تهیه شدند. به منظور انجام آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی، پنج رقت ۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از مشتقات تiazولی و پنج رقت از ۱۰۰۰ تا ۰/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نمونه‌های کنترلی (سیپروفلوکساسین و سفتری‌زوکسیم) فراهم شد (۱۶).

تعیین فعالیت ضد باکتریایی مشتقات سنتز شده به روش انتشار از چاهک

پس از تهیه سوسپانسیون باکتری‌ها در لوله توسط آب مقطر و مطابقت کدورت سوسپانسیون با کدورتی معادل استاندارد نیم مک‌فارلند که معادل $10^8 \times 1/5$ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر باکتری می‌باشد، مقداری از سوسپانسیون باکتری با استفاده از سوپاپ پنبه‌ای استریل برداشته شد و روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت چمنی و کاملاً یکنواخت کشت گردید. سپس به وسیله پپیت پاستور، چاهک‌هایی در پلیت ایجاد شد. در ادامه، ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های تهیه شده از مشتقات تiazول و نمونه‌های کنترلی به داخل چاهک‌ها تزریق گشت. نمونه‌های کنترلی به منظور مقایسه هاله‌های عدم رشد با ترکیبات جدید مورد استفاده قرار گرفتند. در انتها، درب پلیت‌ها بسته شد و آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار گرفتند. پس از

گذشت ۲۴ ساعت، پلیت‌ها از نظر تعیین حضور هاله عدم رشد بررسی شدند (۱۹-۱۷).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از تعیین رقت لوله‌ای

سویه‌های باکتریایی مورد بررسی به مدت ۱۸ ساعت در محیط کشت نوترینت براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. در ادامه، پنج لوله برای هر نمونه در جالوله‌ای چیده شد و در تمام لوله‌ها ۱ سی‌سی محیط کشت مولر هینتون براث، ۶۰۰ میکرولیتر از مشتقات سنتز شده تiazول و ۴۰۰ میکرولیتر باکتری مورد نظر ریخته شد. پس از مخلوط کردن، ۱ سی‌سی از لوله اول به لوله دوم اضافه گردید و این کار تا لوله پنجم ادامه پیدا کرد. باید خاطر نشان ساخت که ۱ سی‌سی از لوله پنجم بیرون ریخته شد و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوباتور قرار گرفت. این عمل برای نمونه‌های کنترلی نیز انجام شد. سپس لوله‌ها به طور چشمی از نظر کدورت بررسی گردیدند و بالاترین رقتی که باعث بازدارندگی رشد باکتری‌ها (عدم ایجاد کدورت) شد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) ثبت گردید. از سوی دیگر، ۵ میکرولیتر از هر یک از لوله‌های فاقد کدورت روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار کشت داده شد و بالاترین رقتی که از تشکیل کلنی روی محیط جامد پس از کشت به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جلوگیری نمود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد (۲۰).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

بررسی اثر ضد میکروبی مشتقات سنتز شده با سه بار تکرار در هر مرحله انجام شد. انحراف معیار و میانگین

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که ترکیب R2 بیشترین میزان اثر را با میانگین اندازه $34 \pm 1/55$ میلی‌متر نسبت به ترکیب R1 با میانگین اندازه $30 \pm 0/45$ میلی‌متر بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از خود نشان داده است. نکته حائز اهمیت آن است که ترکیب R2 میزان اثر بیشتری از نمونه کنترلی سفتی‌زوکسیم و تقریباً برابر با سیپروفلوکساسین از خود به نمایش گذاشته است. همچنین ترکیب R1، قطر هاله برابری با نمونه کنترلی سفتی‌زوکسیم داشته است. بررسی دقیق ساختار هر دو مشتق حاکی از آن بودند که گروه‌های عاملی متصل به

ترکیب یلیدن استات، به خوبی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* از خود خاصیت ضد باکتریایی نشان دادند. بررسی نتایج حاکی از قدرت مهاری ترکیبات باعث تقویت این فرضیه می‌شود که احتمالاً این مشتقات اثر مهاری خود را با مهار ساخت یا تخریب دیواره سلولی بر باکتری‌ها اعمال می‌کنند؛ هرچند بررسی تحقیقات گذشته در ارتباط با تiazول‌ها این امر را تأیید نکرده است و بیشتر پژوهشگران اثر مهاری تiazول‌ها را مرتبط با مهار آنزیم‌های سلولی و ژنوم می‌دانند (۲۴،۲۵). ترکیبات مذکور بر دو باکتری دیگر نیز تأثیرگذار بوده‌اند.

میزان قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر و نتایج میزان MIC و MBC در جدول ۲ و تصاویر پلیت‌ها در شکل ۷ نشان داده شده است.

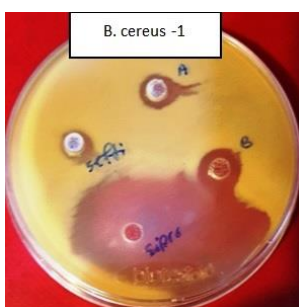
جدول ۲: میزان قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر)، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ترکیبات بر باکتری‌های تحت آزمایش در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

ترکیب	باکتری								
	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>			<i>استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس</i>			<i>باسیلوس سرئوس</i>		
	MBC	MIC	هاله عدم رشد	MBC	MIC	هاله عدم رشد	MBC	MIC	هاله عدم رشد
R ₁	۵۰۰	۲۵۰	$30 \pm 0/45$	۱۰۰۰	۱۰۰۰	$11 \pm 0/67$	-	-	$11 \pm 0/5$
R ₂	۲۵۰	۱۲۵	$34 \pm 1/55$	۱۰۰۰	۵۰۰	$13 \pm 1/53$	-	-	14 ± 0
سیپروفلوکساسین	۰/۱۵	۱۲۵	$35 \pm 0/71$	۰/۱۵	۱۲۵	$35 \pm 0/75$	۰/۳۱	۲۵۰	$34 \pm 0/5$
سفتی‌زوکسیم	۰/۰۷	۱۲۵	$31 \pm 0/83$	۰/۰۷	۱۲۵	$20 \pm 0/85$	۰/۰۷	۱۲۵	$11 \pm 0/5$

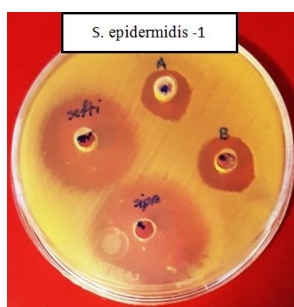
R₁: Methyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-1, 3-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate

R₂: Ethyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-1, 3-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate

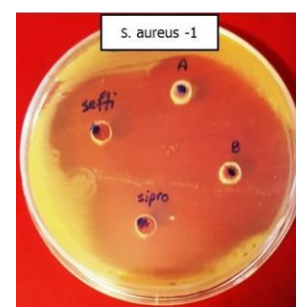
±: میانگین سه بار تکرار



A: Methyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-3, 1-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate(R₁)
B: Ethyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-3, 1-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate(R₂)



A: Methyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-3, 1-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate(R₁)
B: Ethyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-3, 1-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate(R₂)



A: Methyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-3, 1-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate(R₁)
B: Ethyl Z-2-(2-Amino-4-oxo-3, 1-thiazol-5(4H)-yliden) Acetate(R₂)

شکل ۷: آزمایش انتشار از چاهک ترکیبات بر باکتری‌های مورد آزمایش در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

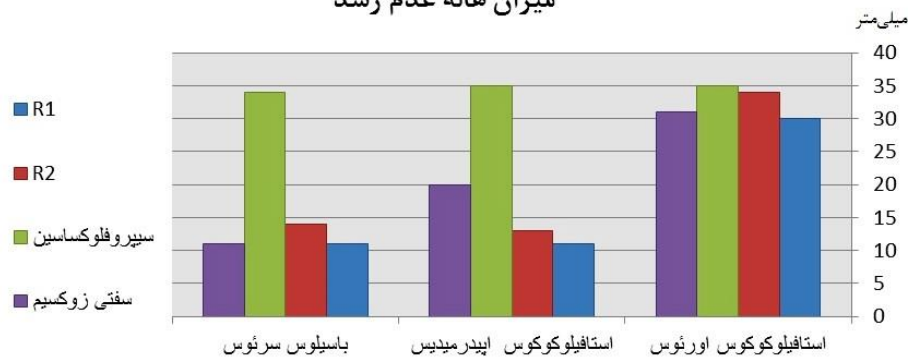
بحث

(۲۵). مطالعات بیشماری در مورد اثرات ضد باکتری مشتقات تiazول انجام شده است که تقریباً در تمامی آن‌ها از دو روش اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد یا MIC همراه با هم یا به تنهایی استفاده شده است. در ادامه برای نمونه به چند مورد از این مطالعات آزمایشگاهی اشاره شده است. در برخی از مطالعات نیز در پی اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در شرایط آزمایشگاهی، اثر ضد باکتری مشتقات تiazول بر باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *باسیلوس مگاتریوم* و *اشریشیا کلی* تأیید گردیده است (۲۶).

در این مطالعه ساختار ترکیبات ساخته‌شده جدید از طریق روش‌های تجزیه‌ای و طیفی مشخص شدند. ترکیبات سنتز شده جدید مشتق از تiazول‌ها که به صورت تک مرحله‌ای سنتز و خالص‌سازی شدند، با استفاده از روش‌های شناسایی مورد تأیید قرار گرفتند. این ترکیبات جدید ساخته‌شده از نظر فعالیت ضد میکروبی به روش‌های ذکر شده در ارتباط با باکتری‌های استاندارد تهیه‌شده ارزیابی گردیدند و با داروهای استاندارد سیپروفلوکساسین و سفتری‌زوکسیم از نظر میزان هاله عدم رشد و روش‌های تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) طبق نمودار ۱ مقایسه شدند. ترکیبات جدید سنتز شده، فعالیت ضد میکروبی قوی در برابر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* را از خود نشان دادند؛ به طوری که نتایج برابر با میزان داروهای رایج مورد استفاده بود. در ارتباط با نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)، ترکیبات مورد آزمایش در ارتباط با باکتری‌های مورد مطالعه نیز نتایج قابل قبولی را به ویژه در زمینه دو باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به دست آمد؛ به نحوی که در مقایسه با نمونه‌های کنترل مثبت ذکر شده می‌توان به این

tiazول‌ها ترکیباتی با اثرات گسترده هستند که در سال‌های اخیر اثرات ضد میکروبی آن‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. طی سالیان اخیر مشتقات بسیاری از این خانواده برای بررسی اثر ضد باکتریایی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند که در اکثر موارد اثر مهاری قابل توجه این مشتقات بر چندین باکتری بیماری‌زای مهم مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیا کلی* گزارش شده است (۲۱، ۲۲). Zablotskaya و همکاران با انجام آزمایشات ضد میکروبی از طریق اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد برای مشتقات جدید تiazول، قطر هاله مهاری ۹-۱۴ و ۹-۱۲ میلی‌متر را به ترتیب برای *باسیلوس سرئوس* و *اشریشیا کلی* گزارش نمودند. این امر نشان می‌دهد حلقه‌های جانبی این مشتقات نتوانسته‌اند اثرات مهاری حلقه تiazول را افزایش دهند (۲۳). Maddila و همکاران نیز فعالیت ضد باکتریایی را برای مشتقات جدید تiazول در مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با اندازه‌گیری MIC معادل ۲۰۰ گزارش نمودند که نتایج فوق با یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر تفاوت داشت. این اختلاف می‌تواند ناشی از وجود ترکیبات با خواص ضد باکتریایی همچون پیریمیدین، کلروفنل و کلرینزیدین در این مشتقات باشد (۲۴). از سوی دیگر، قاسمی و همکاران (۲۰۱۶) تعدادی از مشتقات جدید تiazول، ایمیدازول و تتراهیدروپیریدین را با استفاده از روش چند مرحله‌ای سنتز کردند و اثر ضد باکتریایی ترکیبات را بر پرتئوس ولگاریس بررسی نمودند. نتایج نشان دادند که مشتقات ایمیدازول و تتراهیدروپیریدین ۹a-g، مشتقات تiazول ۶a-c، ۱۰a و ۱۰c فاقد اثر مهاری بر پرتئوس ولگاریس بودند. تنها اثر مهاری سه مشتق تiazول ۶c، ۹b و ۱۰d به ترتیب با قطر هاله مهار رشد 2 ± 0.22 ، 1 ± 0.10 و 1 ± 0.04 میلی‌متر و MIC ۱۲۸، ۵۱۲ و ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید

میزان هاله عدم رشد



نمودار ۱: مقایسه میزان هاله عدم رشد ترکیبات ۱ و ۳-تيازولی و نمونه‌های کنترلی بر حسب میلی‌متر

سرئوس کم بوده است. علاوه بر فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات، نکته حائز اهمیت در این تحقیق روشی است که برای سنتز این مشتقات مورد استفاده قرار گرفته است. سنتز تک مرحله‌ای مسیری سریع و آسان برای سنتز ترکیبات دارویی است که نتیجه آن ذخیره قابل توجه زمان و انرژی بوده و می‌تواند به عنوان یک روش جدید، راهگشایی برای سنتز ترکیبات دارویی با بازده بیشتر و اتلاف انرژی کمتر و همچنین چشم‌انداز روشنی برای سنتز و معرفی ترکیبات دارویی جدید به جامعه پزشکی شود.

حمایت مالی

پژوهش حاضر با حمایت حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی

در مقاله حاضر هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

تضاد منافع

شایان ذکر است که هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آن‌ها ارسال شده است.

نتیجه رسید که مواد جدید سنتز شده تيازولی تقریباً برابر با شواهد مورد استفاده عمل نمودند. این احتمال وجود دارد که گروه عاملی اتیل و متیل متصل به ساختار اصلی با فعالیت ضد میکروبی خود باعث ایجاد خاصیت ضد باکتریایی علیه دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس شدند. در ادامه و برای قوی‌تر شدن خاصیت ضد میکروبی، افزودن گروه‌های عاملی دیگر به این قسمت پیشنهاد می‌شود. لازم به ذکر است که حداقل غلظت مهاری ترکیبات در دامنه ۲۰ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری‌ها قرار داشت.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل از روش انتشار ماده ضد میکروبی از چاهک و بررسی هاله‌های عدم رشد مشخص گردید که ترکیبات R₁ و R₂ هر دو در ارتباط با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به خوبی عمل نموده‌اند؛ به طوری که ترکیب R₁ در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با اندازه هاله رشد ۳۰±۰/۴۵ میلی‌متر و ترکیب R₂ در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با اندازه هاله رشد ۳۴±۱/۵۵ میلی‌متر به خوبی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تأثیرگذار بوده است؛ اما تأثیر این ترکیبات بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باسیلوس

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از کارشناس آزمایشگاه

میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز؛
جناب عابدنژاد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Lee S, Eom MS, Han MS. Multi-screening of β -lactam antibiotics for β -lactamase resistance by means of a paper-based analytical device with a 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR)-Hg²⁺ complex. *Analyt Methods*. 2019; 11(13):1729-34.
2. Tian J, Xiao C, Huang B, Jiang X, Cao H, Liu F, et al. Combating multidrug resistance through an NIR-Triggered cyanine-containing amphiphilic block copolymer. *ACS Appl Bio Mater*. 2019; 2(5):1862-74.
3. Chatzopoulou M, Reynolds L. The role of antimicrobial restrictions in bacterial resistance control: a systematic literature review. *J Hosp Infect*. 2020; 104(2):125-36.
4. Rather IA, Kim BC, Bajpai VK, Park YH. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. *Saudi J Biol Sci*. 2017; 24(4):808-12.
5. Frija LM, Pombeiro AJ, Kopylovich MN. Coordination chemistry of thiazoles, isothiazoles and thiadiazoles. *Coordinat Chem Rev*. 2016; 308:32-55.
6. Paerl RW, Bouget FY, Lozano JC, Vergé V, Schatt P, Allen EE, et al. Use of plankton-derived vitamin B1 precursors, especially thiazole-related precursor, by key marine picoeukaryotic phytoplankton. *ISME J*. 2017; 11(3):753-95.
7. Qureshi A, Pradhan A. Short review on thiazole derivative. *J Drug Deliv Ther*. 2019; 9(4-A):842-7.
8. Jain N, Singh B. An overview of biological and synthetic aspects of thiazole derivatives in heterocyclic chemistry. *World J Res Rev*. 2016; 3(5):52-7.
9. Piechowicz KA, Truong EC, Javed KM, Chaney RR, Wu JY, Phuan PW, et al. Synthesis and evaluation of 5, 6-disubstituted thiopyrimidine aryl aminothiazoles as inhibitors of the calcium-activated chloride channel TMEM16A/Ano1. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2016; 31(6):1362-8.
10. Krimm I, Kufareva I, Ashraf A, Kamal M, Seetoh WG, Abell C, et al. 2-Aminothiazole derivatives as selective allosteric modulators of the protein kinase CK2. 1. identification of an allosteric binding site. *J Med Chem*. 2019; 62:1803-16.
11. Tamarkin D, Friedman D, Eini M, Besonov A, Danziger J, Schuz D, et al. Oleaginous pharmaceutical and cosmetic foam. *U S Patent Appl*. 2007; 11(653):205.
12. Sokhey SS, Wagle PM. A note on the use of sulphonamides in the treatment of plague in the field. *Ind Med Gaz*. 1946; 81(9):343-6.
13. Bharti SK, Nath G, Tilak R, Singh SK. Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2, 4-disubstituted thiazole ring. *Eur J Med Chem*. 2010; 45(2):651-60.
14. Liang X, Yu X, Pan X, Wu J, Duan Y, Wang J, et al. A thiadiazole reduces the virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by inhibiting the histidine utilization pathway and quorum sensing. *Mole Plant Pathol*. 2018; 19(1):116-28.
15. Gull Y, Rasool N, Noreen M, Altaf A, Musharraf SG, Zubair M, et al. Synthesis of N-(6-Arylbenzo [d] thiazole-2-acetamide derivatives and their biological activities: an experimental and computational approach. *Molecules*. 2016; 21(3):266.
16. Owuama CI. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *Afr J Microbiol Res*. 2017; 11(23):977-80.
17. Lhermie G, Gröhn YT, Raboisson D. Addressing antimicrobial resistance: an overview of priority actions to prevent suboptimal antimicrobial use in food-animal production. *Front Microbiol*. 2017; 7:2114.
18. Hou L, Shi Y, Zhai P, Le G. Antibacterial activity and in vitro anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (*Musca domestica*). *J Ethnopharmacol*. 2007; 111(2):227-31.
19. Amoo S, Ndhkala AR, Finnie JF, Van Staden J. Antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties of *Burchellia bubaline*. *South Afr J Botany*. 2009; 75(4):60-3.
20. Rai NP, Narayanaswamy VK, Shashikanth S, Arunachalam PN. Synthesis characterization and antibacterial activity of 2-[1-(5-chloro-2-methoxyphenyl)-5-methyl-1H-pyrazol-4-yl]-5-substitutedphenyl-[1,3,4] oxadiazoles. *Eur J Med Chem*. 2009; 44(3):4522-7.
21. Karegoudar P, Karthikeyan MS, Prasad DJ, Mahalinga M, Holla BS, Kumari NS. Synthesis of some novel 2,4-disubstituted thiazoles as possible antimicrobial agents. *Eur J Med Chem*. 2008; 43(2):261-7.
22. Lv PC, Wang KR, Yang Y, Mao WJ, Chen J, Xiong J, et al. Design, synthesis and biological evaluation of

- novel thiazole derivatives as potent FabH inhibitors. *Bioorg Med Chem Let.* 2009; 19(23):6750-4.
23. Zablotskaya A, Segal I, Geronikaki A, Eremkina T, Belyakov S, Petrova M, et al. Synthesis, physicochemical characterization, cytotoxicity, antimicrobial, anti-inflammatory and psychotropic activity of new N-[1, 3-(benzo) thiazol-2-yl]-u-[3, 4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl] Alkanamides. *Eur J Med Chem.* 2013; 70:846-56.
 24. Maddila S, Gorle S, Seshadri N, Lavanya P, Jonnalagadda SB. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of novel benzothiazole pyrimidine derivatives. *Arabian J Chem.* 2016; 9(5):981-7.
 25. Behzad G, Hamid B, Mohsen N. The antibacterial effects of the new derivatives of Thiazole, Imidazole and Tetrahydropyridine against *Proteus vulgaris*: an in vitro study. *Pars J Med Sci.* 2016; 13(4):47-55.
 26. Bondock S, Khalifa W, Fadda AA. Synthesis and antimicrobial evaluation of some new thiazole, thiazolidinone and thiazoline derivatives starting from 1-chloro-3, 4-dihydronaphthalene-2-carboxaldehyde. *Eur J Med Chem.* 2007; 42(7):948-54.



Original Article

One-step Synthesis of Ethyl and Methyl Derivatives of Ylidene-Acetate Bonded at Position 5 of Ring 3,1-Thiazole and Evaluation of Their Antibacterial Activities

Yasin SarveAhrabi^{1*}, Sadaf Shirinbeig²¹ PhD Student of Microbiology, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran² MSc Student of Microbiology, Department of Microbiology, Tehran North Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 10 January 2020

Accepted: 25 March 2020

Abstract

Introduction: The emergence of drug resistance in bacteria is a serious threat to human health; therefore, new thiazole derivatives can be good alternatives for common drugs. In this regard, the aim of this study was the one-step synthesis of ethyl and methyl derivatives of ylidene-acetate bonded at position 5 of ring 3,1-thiazole and evaluation of their antibacterial activities.

Materials and Methods: From the single-step reaction between thiourea and acetylene decarboxylase derivatives in acetone solvent, the new thiazole structures were derived based on ethyl and methyl, and they were investigated and confirmed by spectroscopic methods, including infrared, carbon nuclear magnetic resonance, and hydrogen proton nuclear magnetic resonance. The antibacterial properties of this isomer were assessed applying minimal inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, and disc diffusion methods. These properties were tested with three repetitions on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Bacillus cereus* at a concentration of 1 mg/ml.

Results: The results of the present study showed that the strongest inhibitory effect ($R_2=250$ mg/ml) and highest diameter of the inhibitory zone ($R_2=34\pm 1/55$ mm) of the derivatives used in this experiment were related to *Staphylococcus aureus* as the same effect of conventional antibacterial drugs.

Conclusion: The results of this study indicated that the new single-step 3,1-thiazole derivatives have very good antibacterial activities against gram-positive bacteria.

Keywords: 3,1-Thiazole, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*